

Toksisitas Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air dari Daun Jotang Kuda (*Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn.), Daun Gandarusa (*Justicia Gendarussa* Burm.F.), dan Daun Pulutan (*Urena lobata* L.) dengan Brine Shrimp Lethality Test

(Toxicity of Ethanol Extract and Water Extract of *Synedrella nodiflora*(L.) Gaertn. Leaves, *Justicia gendarussa* Burm.f. Leaves, and *Urena lobata* L. Leaves with Brine Shrimp Lethality Test)

Agustinus Widodo*, Akhmad Khumaidi, Putri Faradila A. Lasongke

Jurusan Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Tadulako, Palu, Indonesia, 94118

Article Info:

Received: 10 September 2019

in revised form: 24 September 2019

Accepted: 27 October 2019

Available Online: 27 October 2019

Keywords:

Synedrella nodiflora (L.) Gaertn

Justicia gendarussa Burm. f.

Urena lobata L.

BSLT

LC₅₀

ABSTRACT

Jotang kuda (*Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn.), gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm.f.) and pulutan (*Urena lobata* L.) leaves are used by several tribes in Central Sulawesi for the treatment of cancer. This study aims to determine the value of LC₅₀ (Lethal Concentration 50) of ethanol and water extracts from the *S. nodiflora*, *J. gendarussa* and *U. lobata* leaves and identify the class of chemical compounds contained in extracts with the highest toxicity. The ethanol extract was obtained by the maceration method using ethanol 96% and the water extract was obtained by the infusion method. The extract toxicity test was carried out by Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) and identification test was carried out by Thin Layer Chromatography (TLC). The toxicity test results (LC₅₀) of 96% ethanol extract and water extract of *S. nodiflora* leaves were 395.60 µg/ml and 109.25 µg/ml; *J. gendarussa* leaves 713.34 µg/ml and 18.02 µg/ml; and *U. lobata* leaves 188.38 µg/ml and 85.37 µg/ml, respectively. The results of identification showed that the water extract of the *J. gendarussa* leaves containing alkaloids, flavonoids, phenolics, saponins, and steroids-terpenoids. The results of this study indicated that the extracts of *S. nodiflora* leaves, *J. gendarussa* leaves, and *U. lobata* leaves are potential to be developed as anticancer.

Corresponding Author:

Agustinus Widodo

Jurusan Farmasi

FMIPA Universitas Tadulako

Palu

94118

Indonesia

email:

widodoagustinus.untad@gmail.com

Copyright © 2019 JFG-UNTAD

This open access article is distributed under a Creative Commons Attribution (CC-BY-NC-SA) 4.0 International license.

How to cite (APA 6th Style):

Widodo, A., Khumaidi, A., & Lasongke, P. F. A. (2019). Toksisitas Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air Dari Daun Jotang Kuda (*Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn.), daun Gandarusa (*Justicia Gendarussa* Burm.F.), dan Daun Pulutan (*Urena lobata* L.) dengan Brine Shrimp Lethality Test. *Jurnal Farmasi Galenika :GalenikaJournal of Pharmacy*, 5(2), 198-205. doi:10.22487/j24428744.2019.v5.i2.13935

ABSTRAK

Daun jotang kuda (*Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn.), daun gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm.f.), dan daun pulutan (*Urena lobata* L.) secara empiris digunakan oleh beberapa suku di Sulawesi Tengah untuk pengobatan kanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nilai LC_{50} (*Lethal Concentration 50*) dari ekstrak etanol dan ekstrak air dari daun jotang kuda, daun gandarusa, dan daun pulutan, dan mengetahui golongan senyawa kimia yang terkandung pada ekstrak dengan toksisitas tertinggi. Ekstrak etanol diperoleh dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% dan ekstrak air diperoleh dengan metode infusa. Uji toksisitas ekstrak dilakukan dengan BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*), dan uji identifikasi golongan senyawa dilakukan dengan Kromatografi Lapis Tipis. Hasil uji toksisitas (LC_{50}) ekstrak etanol 96% dan ekstrak air daun jotang kuda secara berturut-turut yaitu 395,60 $\mu\text{g/ml}$ dan 109,25 $\mu\text{g/ml}$; daun gandarusa 713,34 $\mu\text{g/ml}$ dan 18,02 $\mu\text{g/ml}$; dan daun pulutan 188,38 $\mu\text{g/ml}$ dan 85,37 $\mu\text{g/ml}$. Hasil identifikasi golongan senyawa menunjukkan ekstrak air daun gandarusa mengandung alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, dan steroid-terpenoid. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun jotang kuda, daun gandarusa, dan daun pulutan memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai antikanker.

Kata kunci: *Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn., *Justicia gendarussa* Burm. f., *Urena lobata* L., BSLT, LC_{50} .

PENDAHULUAN

Penyakit kanker adalah salah satu penyakit yang sangat berbahaya bagi manusia. *The International Agency for Research on Cancer* (IARC) dan *World Health Organization* (WHO) tahun 2018, melaporkan angka kejadian kanker di Indonesia menempati urutan kedelapan di Asia Tenggara dan urutan kedua puluh tiga di Asia. Kasus kanker di dunia mengalami peningkatan tiap tahunnya, sehingga saat ini menjadikan kanker sebagai penyebab kematian nomor dua di dunia (WHO, 2018). Walaupun telah banyak ditemukan obat antikanker namun hasilnya belum memuaskan dan biayanya juga sangat mahal. Hal inilah yang mendorong masyarakat untuk melakukan pengobatan menggunakan obat tradisional (Wongkar et.al, 2015).

Hasil studi etnofarmasi pada Suku Dampelas di Kabupaten Donggala diketahui bahwa daun jotang kuda (*Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn. memiliki khasiat sebagai antikanker, dengan cara penggunaannya ditumbuk dan ditempelkan pada luka atau benjolan pada payudara (Adisaputra, 2016). Hasil penelitian yang dilakukan pada Suku Moma di Kabupaten Sigi diketahui bahwa daun pulutan (*Urena lobata* L.) memiliki khasiat antikanker, dengan cara penggunaannya direbus selama 15 menit kemudian diminum 2 kali sehari (Islami, 2017). Penelitian terbaru yang dilakukan pada Suku Lalaleo

Kabupaten Tojo Una-una diketahui bahwa daun gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm. f.) memiliki khasiat antikanker, dengan cara penggunaannya direbus kemudian diminum 3 kali sehari (Kadase, 2017).

Penelitian ini menguji potensi toksisitas dari ekstrak etanol 96% dan infusa dari daun andengo, daun bencue, dan daun pulutan. Metode awal yang umum dipakai untuk mengamati toksisitas senyawa dan merupakan metode penapisan untuk aktivitas antikanker senyawa kimia dalam ekstrak tumbuhan adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan menggunakan larva *Artemia salina* Leach. dan melihat nilai LC_{50} (Meyer, 1982). Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah dari ketiga ekstrak tumbuhan tersebut yang potensial sebagai antikanker.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah thermometer, pipet tetes, colony counter, vacuum rotary evaporator (Eyela N-1 200B), neraca analitik (Ohaus), alat penetas telur udang, vial, wadah maseras, lampu UV 254 nm dan 366 nm, chamber. dan lempeng KLT silika Gel GF₂₅₄.

Bahan yang digunakan adalah daun jotang kuda, daun gandarusa, dan daun pulutan, Etanol 96%, Aquades, ragi, plat silika gel GF 254, serbuk Magnesium, Asam Klorida, FeCl_3 , pereaksi *Dragendroff*, *Lieberman-Burchard*, air laut, dan larva *A. salina*.

Metode

Pengambilan sampel

Pengambilan sampel daun jotang kuda, daun gandarusa, dilakukan di Desa Rerang, Kecamatan Dampelas, Kabupaten Donggala, dan sampel daun pulutan dilakukan di Desa Lolu, Kecamatan Sigi-Biromaru, Kabupaten Sigi. Identifikasi dilakukan di Laboratorium Biodiversitas Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Tadulako (No.: 016/UN28.1.28/BIO/2018).

Pengolahan Sampel

Daun jotang kuda, daun gandarusa, dan daun pulutan terlebih dahulu dipisahkan dari batangnya, kemudian disortasi basah, selanjutnya dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang kemungkinan masih menempel dan ditiriskan, kemudian dirajang kecil-kecil lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa terkena paparan sinar matahari langsung hingga daun menjadi kering. Setelah kering daun dibersihkan kembali dari kotoran yang tertinggal saat pengeringan. Sampel daun selanjutnya diserbukkan dan disimpan.

Pembuatan Ekstrak Etanol 96%

Ekstrak etanol 96% daun jotang kuda, dibuat dengan menimbang 100 g serbuk simplisia daun jotang kuda, kemudian dimasukkan ke dalam wadah maserasi dan ditambahkan etanol 96% sehingga serbuk terendam. Diaduk dan didiamkan selama 3x24 jam lalu disaring untuk mendapatkan filtrat. Lalu filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada 50°C dan *waterbath* untuk mendapatkan ekstrak kasar. Cara yang sama digunakan untuk membuat ekstrak etanol 96% daun gandarusa dan ekstrak etanol 96% daun pulutan.

Pembuatan Infusa

Infusa daun jotang kuda, dibuat dengan menimbang 10gram serbuk simplisia daun jotang kuda, kemudian dalam panci infus lalu ditambahkan air sampai 100 ml. Kemudian dipanaskan di atas penangas air

selama 15 menit terhitung mulai suhu mencapai 90°C sambil sekali-kali diaduk. Kemudian diserkai selagi panas melalui kain flanel, dan ditambahkan air melalui ampas sehingga diperoleh volume infusa 100 ml (DepKes RI, 1986). Hasil dari proses infusa (ekstrak air) dimasukkan ke dalam wadah kemudian dikeringkan dengan *freezer dryer* selama 24 jam hingga didapatkan ekstrak kering.

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Penyiapan Larva Udang

Penetasan telur dilakukan dalam wadah plastik bening dengan menggunakan media air laut. Selama penetasan, tempat penetasan diberi penerangan dengan cahaya lampu 5 watt. Media air laut diberi udara dengan menggunakan aerator. Setelah 24-36 jam, biasanya telur-telur telah menetas menjadi larva yang disebut nauplii. Nauplii aktif yang telah berumur 48 jam digunakan sebagai hewan uji dalam penelitian.

Uji Toksisitas

Pada pengujian digunakan 5 seri konsentrasi yang berbeda, dimana konsentrasi yang digunakan adalah 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm dan 800 ppm. 10 ekor larva artemia yang telah berumur 48 jam diambil, dimasukan dalam vial yang berisi ekstrak dengan konsentrasi tertentu. Kemudian ditambahkan air laut sebanyak 3 ml. Lalu ditambah 1 tetes suspensi ragi sebagai makanan dan air laut sampai 5 ml. Setiap pengujian disertai dengan kontrol negatif dan dibuat 3 kali replikasi. Vial dijaga agar selalu mendapat penerangan. Setelah 24 jam, jumlah larva yang mati dihitung untuk mengetahui nilai probit dan dianalisis untuk mengetahui harga LC_{50} (Meyer *et al*, 1982).

Persen kematian dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ kematian} = \frac{\text{jumlah kematian} - \text{jumlah kematian kontrol}}{\text{jumlah larva awal (10)}} \times 100\%$$

Nilai LC_{50} diperoleh dari hasil perhitungan dari persamaan regresi linear, yang diperoleh dari log konsentrasi sebagai sumbu X dan persen kematian *A. salina* yang dikonversikan ke nilai probit sebagai sumbu Y.

Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Dengan Kromatografi Lapis Tipis

Uji Alkaloid

Reagen *Dragendorff* disemprotkan pada lempeng KLT, setelah disemprot reagen *Dragendorff* akan memberi warna noda oranye berlawanan dengan latar belakang kuning, berdasarkan kompleks alkaloid dan komponen logam bismuth dari reagen (Waksmundzka *et al.*, 2008).

Uji Flavanoid

Sampel disemprot dengan pereaksi AlCl_3 . Flavanoid akan berpendar dengan warna kuning, hijau, atau biru kehitaman (Waksmundzka *et al.*, 2008).

Uji Saponin

Plat KLT dipanaskan pada suhu 110°C dalam oven selama 5 menit. Positif jika terdapat noda berwarna coklat setelah penyempnotan Asam Sulfat 20%. Positif saponin ditegaskan dengan pereaksi *Lieberman-Burchard* (Glensk *et al.*, 2005).

Uji Steroid

Plat KLT dipanaskan pada suhu 110°C . digunakan pereaksi *Lieberman-Burchard*. Positif steroid jika noda yang dihasilkan berwarna hijau kebiruan dan biru violet (Kristanti dkk, 2008).

Uji Terpenoid

Plat KLT dipanaskan pada suhu 110°C . digunakan pereaksi Anisaldehyd-Asam Sulfat. Positif terpenoid jika noda dihasilkan berwarna ungu (violet), biru, merah, abu-abu, hijau (Stahl, 1985).

Uji Fenolik

Uji senyawa Fenolik digunakan deteksi pereaksi FeCl_3 . Fenol akan memberikan hijau atau biru kehitaman jika diamati pada cahaya tampak (Waksmundzka *et al.*, 2008).

HASIL DAN PEMBAHASAN

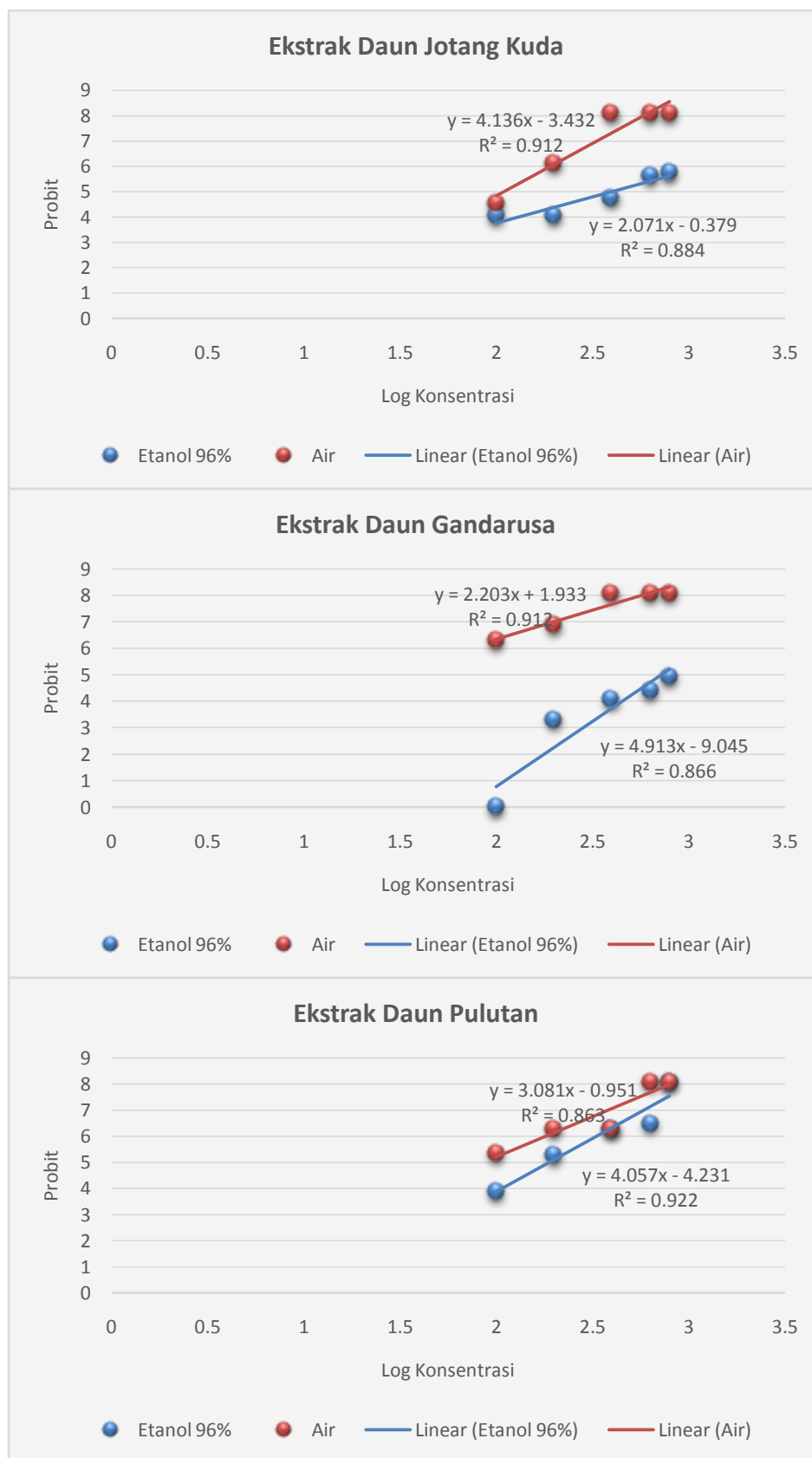
Hasil ekstraksi secara maserasi diperoleh rendemen ekstrak etanol 96% daun jotang kuda sebesar 14,98%, ekstrak etanol 96% daun gandarusa sebesar 13,96%, dan ekstrak etanol 96% daun pulutan sebesar 16,21%. Hasil ekstraksi secara infusa diperoleh rendemen

ekstrak air daun jotang kudasebesar 0,49%, ekstrak air daun gandarusa sebesar 0,76% mg, dan ekstrak air daun pulutan sebesar 0,48%. Rendemen ekstrak yang diperoleh secara maserasi lebih tinggi dibandingkan secara infusa, hal ini dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan dan waktu ekstraksi.

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) merupakan uji praskrining terhadap senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak tumbuhan. *Lethal Concentration 50%* (LC_{50}) diketahui dengan menghitung jumlah larva *A. salina* yang mati karena pengaruh bahan uji. Hasil uji toksisitas menunjukkan ekstrak etanol 96% dan ekstrak air dari daun jotang kuda, daun gandarusa, dan daun pulutan mempunyai nilai $\text{LC}_{50} < 250 \mu\text{g/ml}$, kecuali ekstrak etanol 96% daun jotang kuda dan daun gandarusa (Tabel 1). Hasil ini diperoleh setelah melakukan analisis probit dengan menghubungkan antara kurva log konsentrasi dan nilai probit berdasarkan nilai persentase kematian sel (gambar 1). Berdasarkan nilai toksisitas LC_{50} tersebut, ekstrak di atas dikategorikan sangat toksik karena berada diantara 0-250 $\mu\text{g/ml}$ (Anderson *et al.*, 1991), sehingga memiliki potensi sebagai antikanker.

Berdasarkan data tabel 1, ekstrak yang menunjukan potensi terbesar sebagai antikanker adalah ekstrak air daun gandarusa dengan nilai LC_{50} terkecil 24.64 $\mu\text{g/ml}$. Toksisitas ekstrak air daun gandarusa karena adanya kandungan metabolit sekunder. Toksisitas atau aktivitas antikanker berhubungan dengan kandungan senyawa metabolit sekunder, terutama alkaloid (Lu *et al.*, 2012), flavonoid (Panche *et al.*, 2016), dan fenolik (Koddami *et al.*, 2013). Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak air dari jus daun gandarusa mengandung senyawa alkaloid dan flavonoid (Widiyanti *et al.*, 2018).

Hasil pengujian golongan senyawa kimia ekstrak air daun gandarusa yang dilakukan dengan uji Kromatografi Lapis Tipis pada plat silika gel GF 254, dengan fase gerak yang digunakan untuk identifikasi golongan senyawa flavonoid, fenolik, saponin, dan steroid-terpenoid adalah *n*-butanol-asam asetat-air (3:1:1), dan alkaloid menggunakan fase gerak kloroform-etil asetat-metanol (5:2:2). Hasil identifikasi menunjukkan bahwa ekstrak air daun gandarusa mengandung senyawa flavonoid, fenolik, alkaloid, saponin, dan steroid-terpenoid (Tabel 2).



Gambar 1. Hubungan log konsentrasi ekstrak dan nilai probit (% kematian dari larva *A. salina*)

Tabel 1. Toksisitas ekstrak etanol 96% dan ekstrak air dari daun jotang kuda, daun gandarusa, dan daun pulutan

| Sampel | Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$) | Kematian Larva (%) | LC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$) |
|-------------|-------------------------------------|-----------------------|--|
| Jotang Kuda | Ekstrak Etanol 96% | 100 | 16,67 |
| | | 200 | 16,67 |
| | | 400 | 40 |
| | | 600 | 73,3 |
| | | 800 | 76,67 |
| | Ekstrak Air | 100 | 33,3 |
| | | 200 | 86,67 |
| | | 400 | 100 |
| | | 600 | 100 |
| | | 800 | 100 |
| Gandarusa | Ekstrak Etanol 96% | 100 | 0 |
| | | 200 | 10 |
| | | 400 | 16,67 |
| | | 600 | 26,67 |
| | | 800 | 46,67 |
| | Ekstrak Air | 100 | 90 |
| | | 200 | 97 |
| | | 400 | 100 |
| | | 600 | 100 |
| | | 800 | 100 |
| Pulutan | Ekstrak Etanol 96% | 100 | 13,3 |
| | | 200 | 60 |
| | | 400 | 90 |
| | | 600 | 93,3 |
| | | 800 | 100 |
| | Ekstrak Air | 100 | 63,3 |
| | | 200 | 90 |
| | | 400 | 90 |
| | | 600 | 100 |
| | | 800 | 100 |

Tabel 2. Identifikasi Golongan Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Air Daun Gandarusa

| Senyawa | Pereaksi | Eluen | Rf | Hasil |
|-----------|--------------------------------|---------------------------------------|-------|-------|
| Flavonoid | AlCl ₃ | n-Butanol-Asam asetat-Air (3:1:1) | 0,456 | + |
| | | | 0,542 | |
| | | | 0,220 | |
| Fenolik | FeCl ₃ | n-Butanol-Asam asetat-Air (3:1:1) | 0,8 | + |
| Alkaloid | Dragendroff | Kloroform-Etil asetat-Metanol (5:2:2) | 0,085 | + |
| Saponin | H ₂ SO ₄ | n-Butanol-Asam asetat-Air (3:1:1) | 0,657 | + |
| Steroid | Lieberman-Burchard | n-Butanol-Asam asetat-Air (3:1:1) | 0,8 | + |
| Terpenoid | Lieberman-Burchard | n-Butanol-Asam asetat-Air (3:1:1) | 0,957 | + |

Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun jotang kuda, daun gandarusa, dan daun pulutan memiliki potensisebagai antikanker, khususnya ekstrak air daun gandarusa ($LC_{50} < 50 \mu\text{g/ml}$). Penelitian sebelumnya menunjukkan ekstrak jotang kuda memiliki aktivitas antimikroba dan antioksidan (Wijaya *et al.*, 2011). Ekstrak daun gandarusa telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan (Mruthunjaya & Hukkeri, 2007.) dan aktivitas antivirus (Widiyanti *et al.*, 2018; Widodo, 2019). Ekstrak metanol daun pulutan juga telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan dan sitotoksik (Ali *et al.* 2013). Radikal bebas dan virus erat kaitannya dengan faktor pemicu dari kanker (Noda and Wakasugi, 2001; Maldonado *et al.*, 2016), sehingga bahan alam dengan aktivitas antioksidan dan antivirus dapat digunakan sebagai pencegahan atau pengobatan kanker. Hasil penelitian ini sesuai denganhasil studi etnofarmasi dari ketiga tumbuhan tersebut, sehingga berpotensi untuk diteliti lebih lanjut sebagai agen antikanker.

KESIMPULAN

Ekstrak daun jotang kuda, daun gandarusa, dan daun pulutan memiliki potensi sebagai antikanker, khususnya ekstrak air daun gandarusa ($LC_{50} < 50 \mu\text{g/ml}$). Golongan senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak air daun gandarusa adalah alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, dan steroid-terpenoid.

DAFTAR PUSTAKA

- Adisaputra, A.D., Syariful Anam., Akhmad Khumaidi. (2016). Studi Etnofarmasi Tumbuhan Berkhasiat Obat Pada Suku Dampelas Di Kabupaten Donggala Provinsi Sulawesi Tengah. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Tadulako, Palu.
- Ali, M. S., Faruq, K. O., & Rahman, M. A. A. (2013). Antioxidant and cytotoxic activities of methanol extract of *Urena lobata* (L) Leaves. *The Pharma Innovation*, 2(2).
- Anderson, J. E., Goetz, C. M., McLaughlin, J. L., & Suffness, M. (1991). A blind comparison of simple bench top bioassays and human tumour cell cytotoxicities as antitumor prescreens. *Phytochemical analysis*, 2(3), 107-111.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1986). *Sediaan galenik*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat Dan Makanan.
- Gleńsk, M., Włodarczyk, M., Radom, M., & Cisowski, W. (2005). TLC as a rapid and convenient method for saponin investigation. *JPC-Journal of Planar Chromatography-Modern TLC*, 18(102), 167-170.

- Islami, M. Y., Ibrahim, N., & Nugrahani, A. W. (2017). Studi Etnofarmasi Suku Kaili Moma di Kecamatan Kulawi, Kabupaten Sigi, Provinsi Sulawesi Tengah. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenica Journal of Pharmacy)*, 3(1), 27-33.
- Kadase, R.F., Syariful Anam., & Akhmad Khumaidi. (2017). Studi Etnofarmasi Tumbuhan Berkhasiat Obat Pada Suku Lalaleo Di Kabupaten Tojo Una-Una Sulawesi Tengah.Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Tadulako, Palu.
- Koddami, A., Wilkes, & MA Roberts T.H. (2013). Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds, *Molecules* 18(2), 2328-2375.
- Kristanti, A. N., Aminah, N. S., Tanjung, M., & Kurniadi, B. (2008). *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Lu, J.J, Bao, J.L., Chen, X.P., Huang, & Wang, Y.T. (2012), Alkaloids Isolated From Natural Herbs As The Anticancer Agents. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2012, 485042
- Maldonado, J., Cao, S., Zhang, W., & Mansky, L. (2016). Distinct morphology of human T-cell leukemia virus type 1-like particles. *Viruses*, 8(5), 132.
- Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B., Nichols, D.E. & McLaughlin, J.L. (1982). Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta med*, 45(5), 31-34.
- Mruthunjaya, K., & Hukkeri, V. I. (2007). Antioxidant and free radical scavenging potential of *Justicia gendarussa* Burm. leaves in vitro. *Natural Product Sciences*, 13(3), 199-206.
- Noda, N., & Wakasugi, H. (2001). Cancer and oxidative stress. *Japan Medical Association Journal*, 44(12), 535-539.
- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, 5(47), 1-15.
- Stahl, E. (1985). *Analisis obat secara kromatografi dan mikroskopi*. Penerjemah: Padmawinata, K. dan I. Sudiro. Bandung: Penerbit ITB.
- Wakmundzaka-Hajnos, M., Sherman, J., & Kowalika, T. (2008). *Thin Layer Chromatography in Phytochemistry*. London: CRC Press.
- WHO. (2018). <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>, diakses 9 September 2019.
- Widiyanti, P., Prajogo, B., & Widodo, A. (2018). Effect of varying incubation periods on cytotoxicity and virucidal activities of *Justicia gendarussa* Burm. f. leaf extract on HIV-infected MOLT-4 cells. *African journal of infectious diseases*, 12(1S), 133-139.
- Widodo, A. (2019). Prediksi Farmakokinetik, Toksisitas, dan Aktivitas Enzim Protease HIV-1 Inhibitor dari Daun *J. gendarussa*. *Jurnal Farmasi Sains dan Terapan*, 6(1), 1-5.
- Wijaya, S., Nee, T. K., Jin, K. T., Hon, L. K., San, L. H., & Wiart, C. (2011). Antibacterial and antioxidant activities of *Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn.(Asteraceae). *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 8(1).
- Wongkar, J. S., Runtuwene, M. R., & Abidjulu, J. (2015). Uji Toksisitas Ekstrak Daun Benalu Langsung (*Dendrophthoe petandra* (L) Miq) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test. *Jurnal MIPA Unsrat Online*, 4(2), 157-160